

**Agens pengendali hayati (APH) –
Bagian 3 : *Trichoderma spp.***



© BSN 2014

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Persyaratan mutu	2
5 Pengambilan contoh	2
6 Pengujian.....	2
7 Pengemasan.....	3
8 Penandaan atau pelabelan.....	3
Lampiran A (Normatif) Pengambilan contoh APH <i>Trichoderma spp.</i> dalam bentuk padat.....	4
Lampiran B (Normatif) Pengambilan contoh APH <i>Trichoderma spp.</i> dalam bentuk cair.....	5
Lampiran C (Normatif) Uji kerapatan konidium.....	6
Lampiran D (Normatif) Uji viabilitas konidium.....	10
Lampiran E (Normatif) Uji patogenisitas terhadap tanaman tembakau	12
Lampiran F (Normatif) Cara uji penghambatan	13
Lampiran G (Normatif) Uji antibiosis.....	15
Lampiran H (Normatif) Uji mikoparasitisme	17
Lampiran I (Informatif) Pembuatan media agar	18
Lampiran J (Informatif) Morfologi <i>Trichoderma spp.</i>	19
Bibliografi	20

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Agens Pengendali Hayati *Trichoderma* spp. disusun sebagai upaya untuk memberikan jaminan mutu (*quality assurance*) APH, karena saat ini belum ada standar mutu APH yang dapat digunakan sebagai acuan dalam pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) sasaran. *Trichoderma* spp. merupakan jamur antagonistik terhadap patogen antara lain pada *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rigidoporus lignosus* dan *Ganoderma* spp.

Standar ini dirumuskan oleh Komite Teknis (KT) 65-03 Pertanian dan telah dibahas dalam rapat teknis. Perumusan dilakukan dalam rapat konsensus di Bogor pada tanggal 31 Oktober 2013 yang dihadiri anggota Komite Teknis dan pemangku kepentingan lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 17 Maret 2014 sampai dengan 15 Mei 2014 dengan hasil akhir RASNI.



Agens pengendali hayati (APH) – Bagian 3: *Trichoderma* spp.

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan syarat mutu, pengambilan contoh, pengujian, pengemasan dan penandaan Agens Pengendali Hayati (APH) *Trichoderma* spp.

2 Acuan normatif

SNI 19-0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*;

SNI 19-0429, *Petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat*.

3 Istilah dan definisi

3.1

agens pengendali hayati (APH)

mikroorganisme atau organisme yang mempunyai kemampuan untuk menekan, menghambat, atau mematikan jasad sasaran melalui mekanisme tertentu dan berpotensi digunakan dalam pengendalian. APH dapat sebagai parasit, predator atau patogen

3.2

***Trichoderma* spp.**

jamur Imperfecti, kelas Deuteromycetes, genus *Trichoderma*, meskipun ada beberapa diantaranya yang mampu berkembangbiak secara seksual

CATATAN *Trichoderma* spp. memiliki aktivitas antifungal atau dekomposer sehingga dimanfaatkan sebagai APH. Di alam, jamur *Trichoderma* spp. banyak ditemukan di hutan dan lahan pertanian atau pada sisa-sisa kayu lapuk. Jamur *Trichoderma* spp. termasuk jamur tanah (*soil fungus*)

3.3

konidium

organ atau alat perkembangbiakan jamur secara aseksual yang mempunyai bermacam-macam bentuk dan umumnya berkembang dengan membentuk buluh kecambah, berupa sel tunggal atau majemuk, bening (hialin) atau mengandung pigmen (zat warna) cokelat, hijau, atau biru

3.4

kerapatan konidium

jumlah konidium dalam suspensi per satuan volume tertentu atau jumlah konidium dalam bentuk padatan per satuan berat tertentu.

3.5

viabilitas konidium

kemampuan konidium untuk bertahan hidup pada keadaan tertentu yang dapat dilihat dari perkecambahan atau kondisi dinding konidium yang tidak berkerut

3.6

patogenesitas

kemampuan relatif suatu patogen atau entomopatogen untuk menimbulkan penyakit pada inang yang biasanya dinyatakan dalam LD₅₀ dan LT₅₀

3.7

antagonisme

kejadian pada organisme atau mikroorganisme (termasuk jamur) berupa tertekannya aktivitas organisme atau mikroorganisme jika dua atau lebih jasad tersebut diletakkan berdekatan

3.8

antibiosis

peristiwa terjadinya penghambatan satu patogen oleh jasad antagonistik dengan terbentuknya zona bening.

3.9

mikoparasitisme

peristiwa terjadinya penghambatan satu patogen oleh jasad antagonistik dengan jalan organ patogen dibelit oleh hifa jasad antagonistik

3.10

penghambatan

proses terhambatnya pertumbuhan patogen oleh jasad antagonistik melalui proses kompetisi ruang dan nutrisi

4 Persyaratan mutu

Persyaratan mutu APH *Trichoderma* spp. dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1- Persyaratan mutu APH *Trichoderma* spp.

Parameter	Satuan	Nilai
Kerapatan konidium	per ml	$\geq 10^6$
Viabilitas konidium	%	≥ 60
Patogenisitas terhadap tanaman tembakau	-	Negatif
Antagonisme : - Antibiosis - Mikoparasitisme - Penghambatan	- - %	Positif Positif $\geq 50\%$
CATATAN Bila salah satu parameter antagonisme terpenuhi berarti telah memenuhi syarat		

5 Pengambilan contoh

5.1 Pengambilan contoh dalam bentuk padat sesuai dengan SNI 19-0428 dan pengambilan contoh APH dalam bentuk cair sesuai dengan SNI 19-0429.

5.2 Pengambilan contoh dilakukan oleh petugas pengambil contoh yang berkompeten.

6 Pengujian

6.1 Pengujian dilakukan oleh petugas yang kompeten.

6.2 Persiapan contoh pengujian dalam bentuk padat sesuai dengan lampiran A dan dalam bentuk cair sesuai dengan lampiran B.

6.3 Jenis pengujian

6.3.1 Uji kerapatan konidium

Cara uji kerapatan konidium dapat dilihat pada lampiran C.

6.3.2 Uji viabilitas konidium

Cara uji viabilitas konidium dapat dilihat pada lampiran D.

6.3.3 Uji patogenisitas pada tanaman tembakau

Cara uji patogenisitas dapat dilihat pada lampiran E.

6.3.4 Uji antagonisme

6.3.4.1 Cara uji antibiosis dapat dilihat pada lampiran F.

6.3.4.1 Cara uji mikoparasitisme dapat dilihat pada lampiran G.

6.3.4.1 Cara uji penghambatan dapat dilihat pada lampiran H.

7 Pengemasan

7.1 APH dikemas dalam bentuk padat (tepung, serbuk, granul) atau cair.

7.2 Kemasan APH dibuat dari bahan yang tidak mudah rusak dan aman sehingga APH tidak mengalami penurunan mutu.

8 Penandaan atau pelabelan

Penandaan atau pelabelan ditulis dengan bahan yang tidak luntur dan mudah dibaca. Pelabelan sekurang-kurangnya mencatumkan informasi tentang:

- Nama dan alamat produsen;
- Jenis APH;
- Bentuk produk;
- Sasaran OPT;
- Kerapatan konidium;
- Tanggal kadaluwarsa;
- Kode produksi.

Lampiran A
(normatif)
Pengambilan contoh APH *Trichoderma* spp. dalam bentuk padat

A.1 Prinsip

Mengambil contoh *Trichoderma* spp. dalam bentuk padat.

A.2 Bahan

- a. Contoh APH *Trichoderma* spp.
- b. Aluminium foil

A.3 Peralatan

- a. Timbangan analitik;
- b. Sendok sampling;
- c. *Magnetic stirrer*

A.4 Prosedur pengambilan contoh APH

- a. Homogenkan contoh APH *Trichoderma* spp. dalam bentuk padatan dengan cara dikocok.
- b. Ambil contoh APH *Trichoderma* spp. letakkan di atas aluminium foil.
- c. Timbang 1 g contoh bahan uji dengan menggunakan aluminium foil dan masukkan ke erlenmeyer 100 ml.
- d. Tambahkan akuades hingga volume mencapai 100 ml.
- e. Homogenkan larutan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama lebih kurang 15 menit.
- f. Contoh siap digunakan sebagai bahan uji.

Lampiran B
(normatif)
Pengambilan contoh APH *Trichoderma* spp dalam bentuk cair

B.1 Prinsip

Mengambil contoh APH *Trichoderma* spp. dalam bentuk cair.

B.2 Bahan

Contoh APH *Trichoderma* spp.

B.3 Peralatan

- a. Pipet ukur 10 ml;
- b. Erlenmeyer 100 ml;
- c. *Magnetic stirrer*

B.4 Prosedur pengambilan contoh APH

- a. Homogenkan contoh APH *Trichoderma* spp. dalam bentuk cair dengan cara dikocok.
- b. Ambil contoh APH *Trichoderma* spp. sebanyak 10 ml dengan menggunakan pipet ukur.
- c. Masukkan ke dalam erlenmeyer.
- d. Tambahkan akuades hingga volume mencapai 100 ml.
- e. Homogenkan larutan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama lebih kurang 15 menit.
- f. Contoh siap digunakan sebagai bahan uji.

Lampiran C
(normatif)
Uji kerapatan konidium

C.1 Prinsip

Menghitung kerapatan konidium dengan menggunakan *Haemocytometer* tipe *Neubauer improve* dan mikroskop sesuai prosedur.

C.2 Bahan

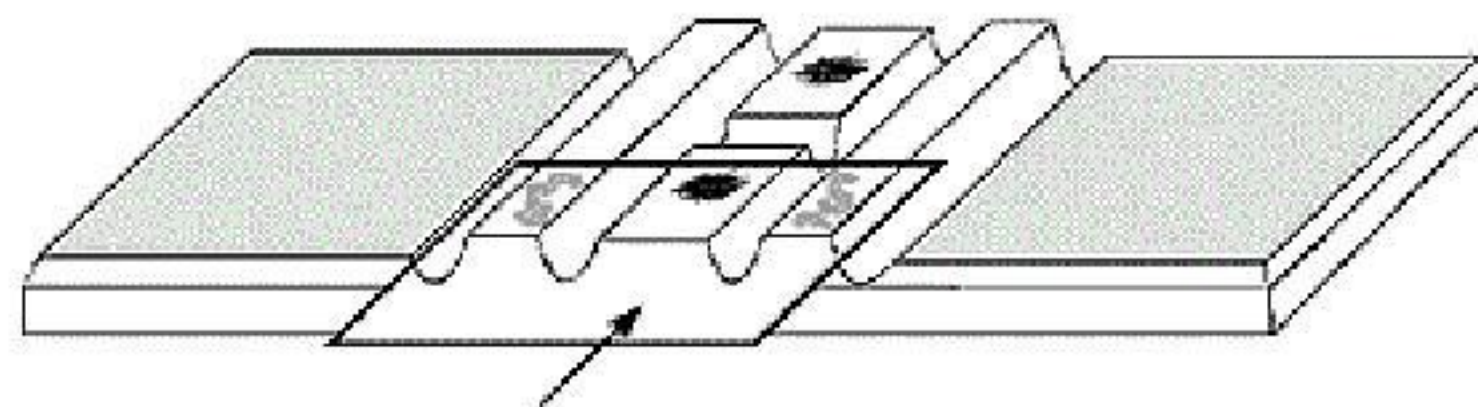
- a. Sampel APH *Trichoderma* spp.;
- b. Akuades 100ml;
- c. Aluminium foil;
- d. Alkohol 70 %.

C.3 Peralatan

- a. Mikroskop;
- b. *Haemocytometer* tipe *Neubauer improve*;
- c. *Hand counter*;
- d. Gelas penutup *haemocytometer* ;
- e. Alat timbang analitik;
- f. *Magnetic stirrer*;
- g. Erlenmeyer 100 ml;
- h. *Syringe* atau pipet 1 ml;
- i. Sendok sampling.

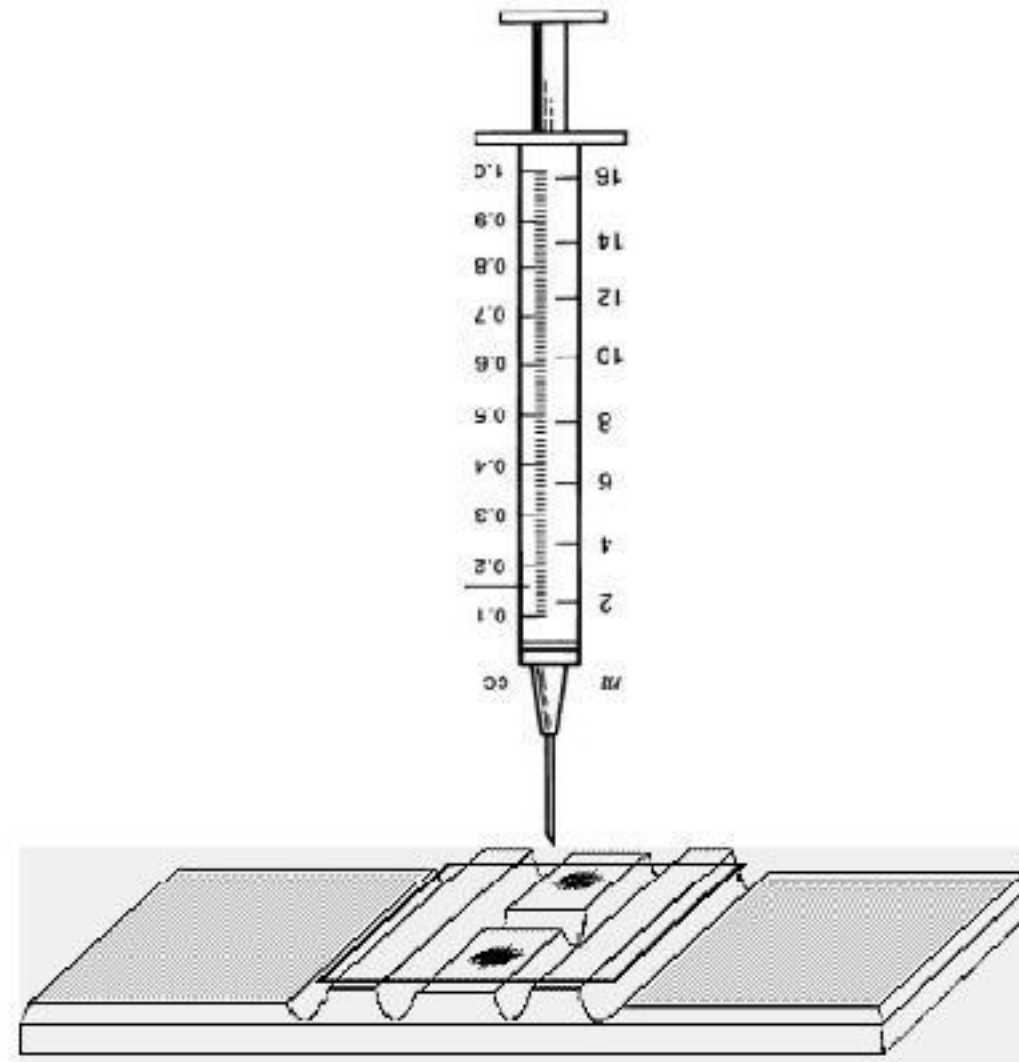
C.4 Prosedur perhitungan kerapatan konidium

- a) Siapkan *haemocytometer* tipe *Neubauer improve*, letakkan pada meja benda mikroskop. Tutup dengan gelas penutup *haemocytometer* seperti Gambar C.1.



Gambar C.1 - Penutupan *haemocytometer* menggunakan gelas penutup

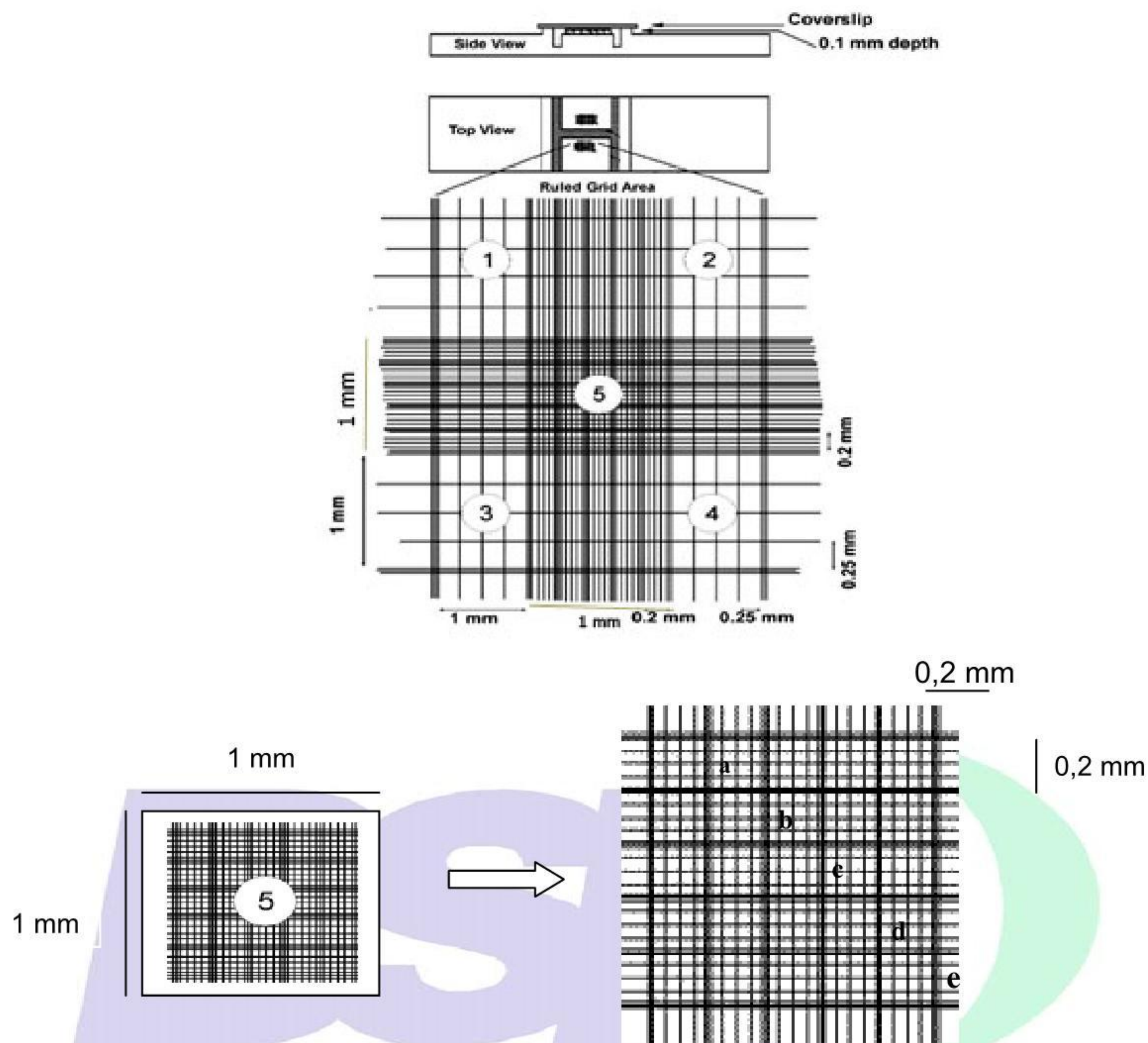
- b) Amati dengan perbesaran 100x, untuk mendapatkan bidang hitung pada *haemocytometer*.
- c) Ambil 0,2 ml contoh uji menggunakan *syringe* atau pipet
- d) Teteskan suspensi konidium secara perlahan pada bidang hitung dengan *syringe* atau pipet melalui kedua kanal pada sisi atas dan bawah hingga bidang hitung terenuhi suspensi secara kapiler. Diamkan satu menit agar posisi stabil (Gambar C.2).



Gambar C.2 - Penetesan suspensi pada bidang hitung

- e) Ulangi pengamatan untuk memperoleh fokus pada konidium dan pada bidang hitung.
- f) Hitung kerapatan konidium yang terdapat pada kotak hitung ($a+b+c+d+e$) dengan perbesaran 400x dengan menggunakan *hand counter*. Lakukan pengecekan penghitungan untuk tiap kotak hitung.

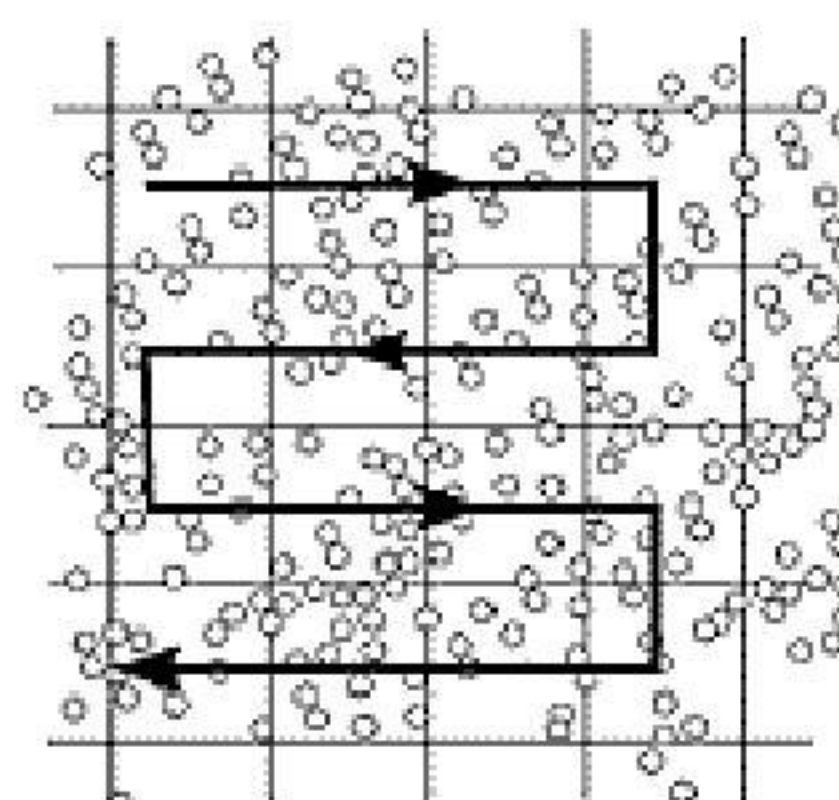




CATATAN Kotak no. 5 dengan luas $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} = 1\text{ mm}^2$ di bagi menjadi 25 kotak sehingga kotak a, b, c, d, e masing-masing memiliki luas $0,2\text{ mm} \times 0,2\text{ mm} = 0,04\text{ mm}^2$

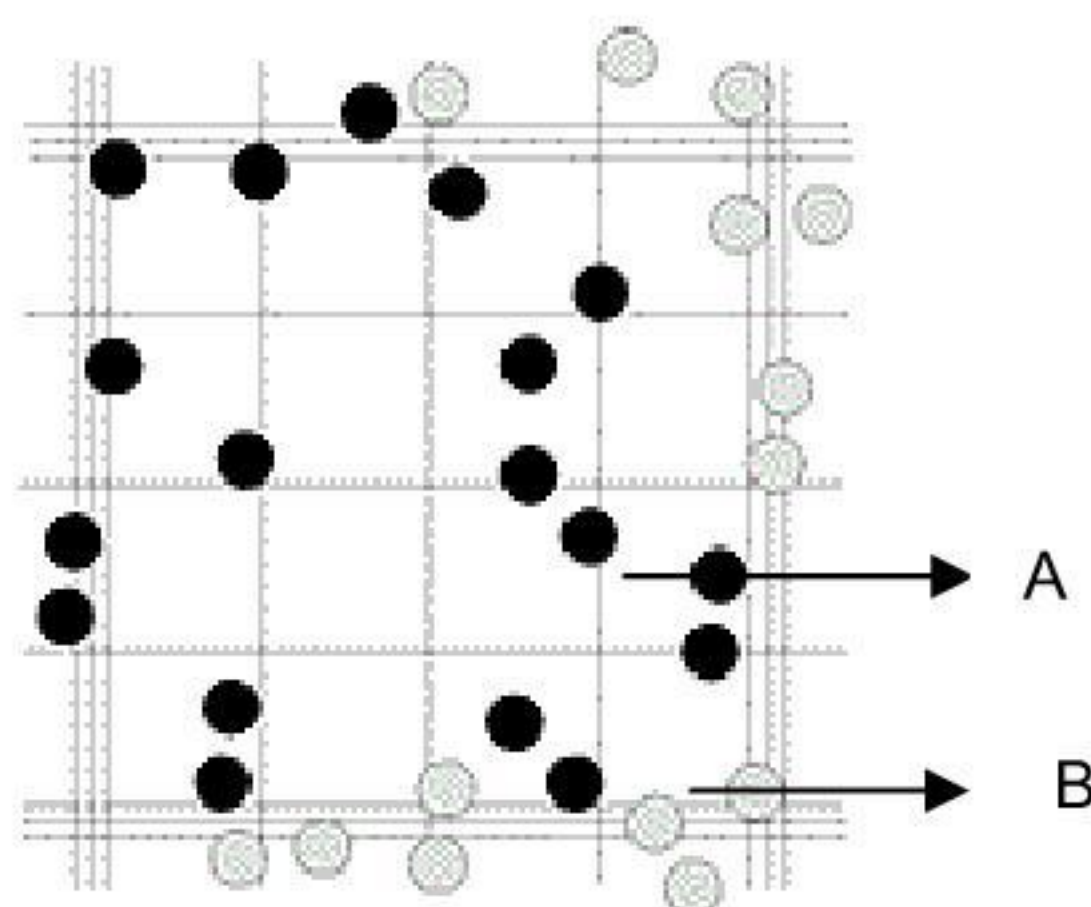
Gambar C.3 - Kotak perhitungan pada *haemacytometer*

g) Alur perhitungan kerapatan konidium seperti tercantum dalam Gambar 4.



Gambar C.4 - Alur perhitungan konidium

h) Konidium yang terletak pada garis batas kotak hitung hanya dihitung pada sisi kiri dan atas kotak hitung tersebut, sedangkan proses perhitungannya seperti Gambar C.5.

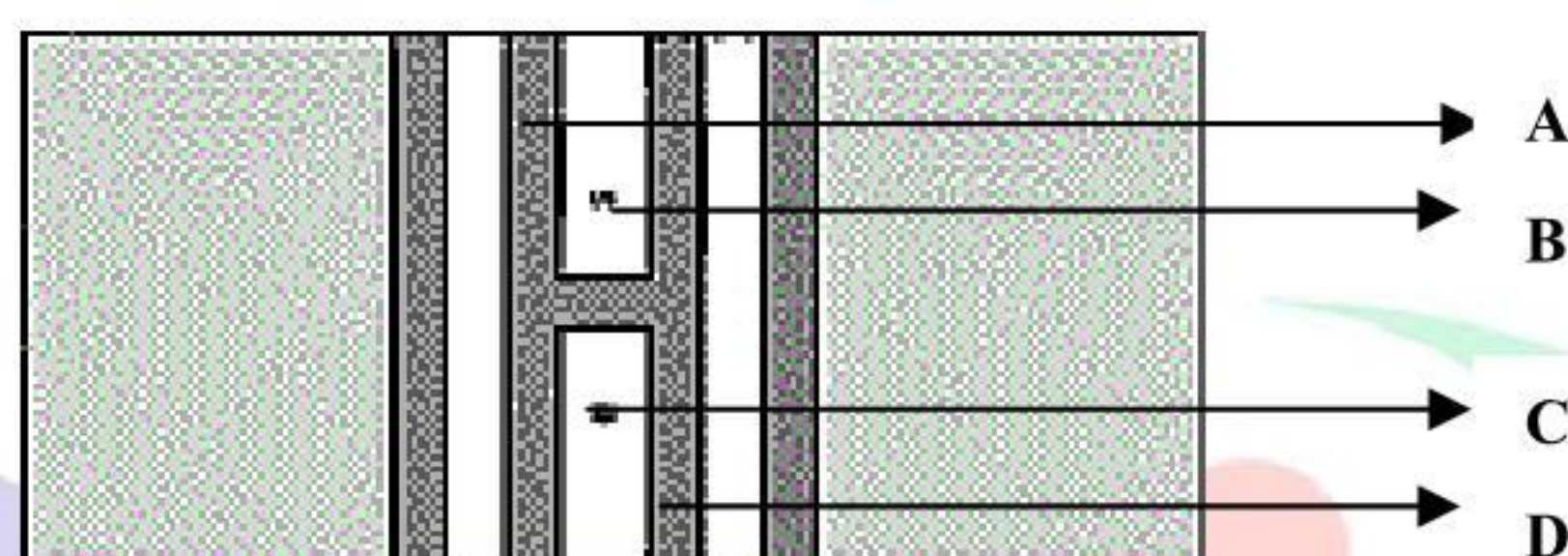


Keterangan gambar:

- A : konidium yang dihitung
B : konidium yang tidak dihitung

Gambar C.5 - Perhitungan konidium

- i) Ulangi langkah C.4.i pada bidang hitung 2



Keterangan :

- A : kanal 1
B : bidang hitung 1
C : bidang hitung 2
D : kanal 2

Gambar C.6 - Kanal pada haemocytometer

- j) Bersihkan *haemocytometer*.
k) Ulangi langkah C.4 a dan C.4 b, kemudian kocok suspensi konidium dengan menggunakan *magnetik stirrer* selama 3 menit.
l) Ulangi langkah C.4 f hingga C.4 i sebanyak 2 kali.
m) Setelah diketahui banyaknya konidium pada kotak perhitungan, hitung jumlah konidium/ml dengan cara sebagai berikut :

$$S = \frac{X}{L \text{ (mm}^2\text{)} \times t \text{ (mm)} \times d} \times 10^3$$

Keterangan :

- S adalah kerapatan konidium/ml
X adalah jumlah konidium pada kotak a,b,c,d,e
L adalah luas kotak hitung 0,04 mm²
T adalah kedalaman bidang hitung 0,1 mm
D adalah faktor pengenceran
10³ adalah volume suspensi yang dihitung (1 ml = 10³ mm³)

CATATAN Rumus ini digunakan apabila *Haemocytometer* yang dipakai *Neubauer improve*. Apabila menggunakan jenis yang lain, maka penghitungan disesuaikan dengan kondisi *Haemocytometer*.

- n) Hitung rerata kerapatan konidium pada kedua ulangan.

Lampiran D
(normatif)
Uji viabilitas konidium

D.1 Prinsip

Menghitung persentase jumlah konidium yang berkecambah.

D.2 Bahan

- a. Sampel APH *Trichoderma* spp.;
- b. Akuades;
- c. Kapas gulung;
- d. Alkohol 70 %;
- e. Medium PDA atau SDA.

D.3 Peralatan

- a. Mikroskop;
- b. *Hand counter*;
- c. Gelas benda (object glass);
- d. Gelas penutup;
- e. *Magnetic stirrer*;
- f. Skalpel;
- g. Lampu spiritus
- h. *Syringe* atau pipet tetes 1 ml;
- i. Cawan petri diameter 9 cm;
- j. Bor gabus (*cork borer*) diameter 0,5 cm.

D.4 Prosedur pengujian viabilitas konidium

- a) Cairkan medium PDA atau SDA tegak di atas lampu spiritus.
- b) Tuangkan PDA atau SDA cair ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm, ratakan dan biarkan sampai padat.
- c) Potong medium PDA atau SDA menggunakan bor gabus diameter 0,5 cm.
- d) Letakkan potongan medium PDA atau SDA menggunakan skalpel diatas gelas benda (object glass). Tiap gelas benda berisi 3 (tiga) potongan medium PDA atau SDA sebagai ulangan.
- e) Teteskan suspensi konidium yang akan diuji sebanyak 1 (satu) tetes (kerapatan 10^6 ml) dengan menggunakan *syringe* atau pipet volume 1 ml.
- f) Tutup tiap-tiap potongan medium PDA atau SDA dengan menggunakan gelas penutup.
- g) Amati di bawah mikroskop apakah konidium tampak jelas dan nantinya dapat diamati.
- h) Siapkan cawan petri berdiameter 9 cm dan isi dengan 1 gulung kapas yang beratnya lebih kurang 0,45 g. Tiap gulung kapas dibasahi dengan 5 tetes akuades menggunakan pipet tetes.
- i) Letakkan gelas benda ke dalam cawan petri dan diinkubasikan selama 8 jam, 16 jam atau 24 jam pada suhu kamar.
- j) Amati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Hitung jumlah konidium yang berkecambah dan yang tidak berkecambah.
- k) Hitung daya kecambah konidium dengan rumus sebagai berikut :

$$VK = \frac{\sum KB}{\sum KB + KTB} \times 100\%$$

Keterangan :

VK adalah viabilitas konidium

KB adalah konidium yang berkecambah

KTB adalah konidium yang tidak berkecambah

- l) Ulangi langkah D.4 j dan D.4 k untuk kedua potongan medium yang lain.
- m) Hitung rerata viabilitas dari ketiga potongan medium tersebut.



**Lampiran E
(normatif)
Uji patogenisitas terhadap tanaman tembakau**

E.1 Prinsip

Mengamati terjadinya patogenisitas berupa timbulnya bercak nekrotik pada daun yang diinokulasi APH *Trichoderma* spp.

E.2 Bahan

- a. Tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum*) berumur 3 minggu - 4 minggu;
- b. Sampel APH *Trichoderma* spp.;
- c. Air steril.

E.3 Peralatan

- a. Erlenmeyer 250 ml
- b. *Syringe*.

E.4 Prosedur pengujian patogenisitas

- a. Siapkan bibit tembakau berumur 3 minggu - 4 minggu dalam *polibag*, dan siramlah dengan air secukupnya.
- b. Siapkan *syringe* yang sudah disterilkan.
- c. Buat suspensi konidium APH *Trichoderma* spp. dalam erlenmeyer dengan kerapatan konidium sesuai standar.
- d. Suntikan secara aseptik tulang daun tembakau pada permukaan bawah dengan suspensi konidium APH *Trichoderma* spp.
- e. Amati ada tidaknya bercak nekrotik pada bagian yang disuntik. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 5 hari.
- f. Bila tidak timbul bercak nekrotik, berarti reaksinya negatif atau tidak patogenik.

**Lampiran F
(normatif)
Cara uji penghambatan**

F.1 Prinsip

Menghitung penghambatan pertumbuhan patogen oleh APH *Trichoderma* spp.

F.2 Bahan

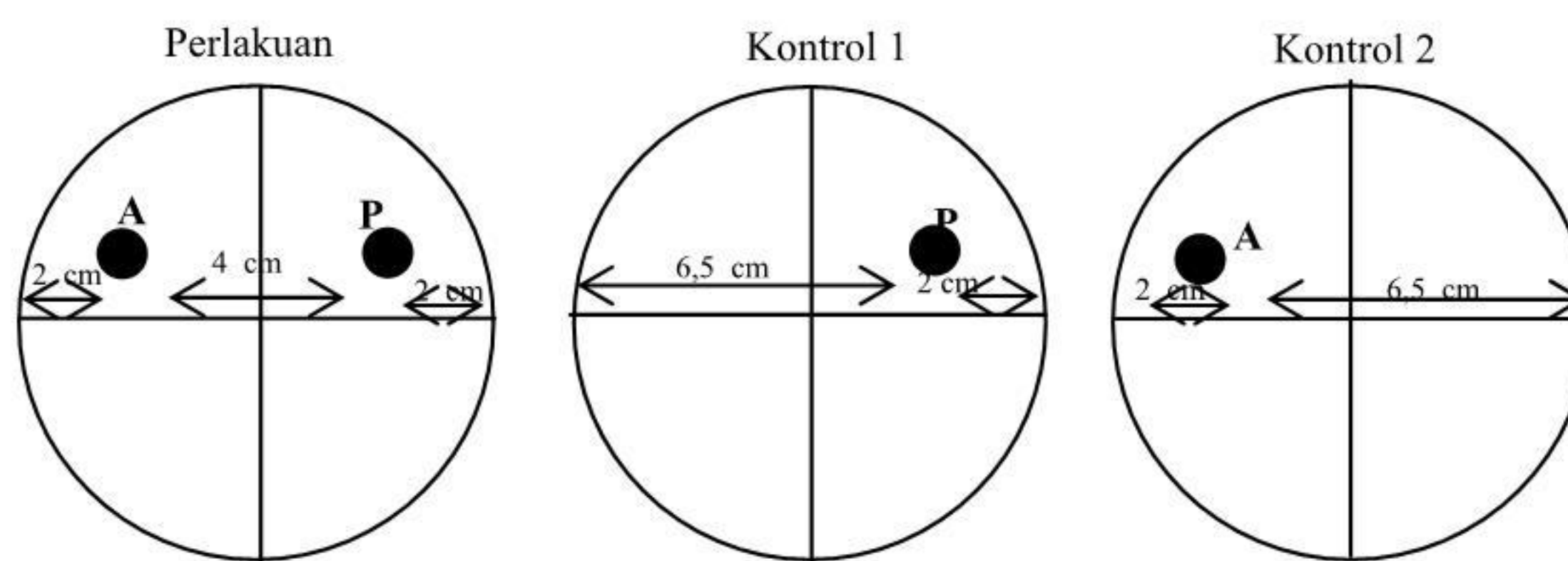
- a. Sampel APH *Trichoderma* spp.;
- b. Patogen *Fusarium* spp. atau patogen yang lain.

F.3 Peralatan

- a. Cawan petri diameter 9 cm;
- b. Erlenmeyer 100 ml;
- c. Bor gabus (*cork borer*) diameter 0,5 cm.

F.4 Prosedur pengujian penghambatan

- a) Siapkan medium PDA dalam cawan petri
- b) Ambil isolat *Trichoderma* spp. yang berumur 7 hari - 9 hari menggunakan bor gabus berdiameter 0,5 cm dari bagian tepi koloni.
- c) Letakkan potongan isolat *Trichoderma* spp. pada medium PDA dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri kemudian beri tanda T.
- d) Ambil isolat *Fusarium* spp. (atau patogen lain) yang sudah disiapkan dengan bor gabus berdiameter 0,5 cm dari bagian tepi koloni.
- e) Letakkan potongan isolat *Fusarium* spp. pada medium PDA dalam cawan petri dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri pada sisi yang berseberangan dengan *Trichoderma* spp kemudian beri tanda P.
- f) Sebagai kontrol letakkan isolat patogen pada medium PDA tanpa *Trichoderma* spp.



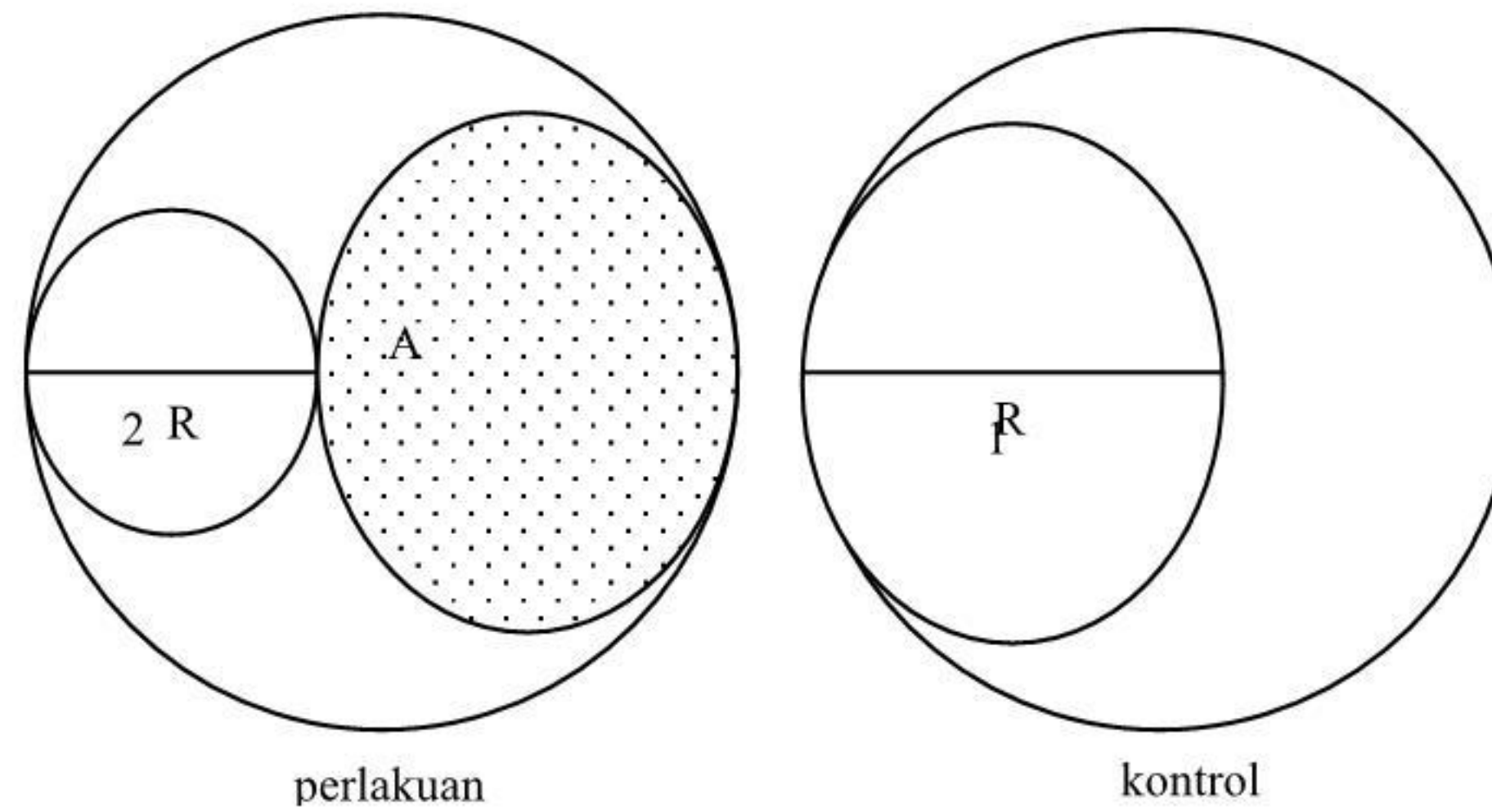
Keterangan

A : *Trichoderma* spp

B : *Fusarium* spp atau patogen lain

Gambar F.1 - Antagonisme *Trichoderma* spp.

- g) Amati pertumbuhan koloni untuk masing-masing jamur hingga terjadi kontak antara *Trichoderma* spp. dengan *Fusarium* spp.
- h) Ukur jari-jari koloni jamur patogen (*Fusarium* spp.) pada cawan petri perlakuan dan kontrol.



Gambar F.2 - Pertumbuhan koloni pada proses

- i) Hitung persentase penghambatan dengan rumus sebagai berikut :

$$Z = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan :

Z adalah Persentase penghambatan

r1 adalah Jari-jari *Fusarium* spp. tanpa *Trichoderma* spp. (kontrol)

r2 adalah Jari-jari *Fusarium* spp. dengan *Trichoderma* spp.

- j) Perlakuan uji penghambatan dilakukan minimum sebanyak tiga ulangan.

Lampiran G (normatif) Uji antibiosis

G.1 Prinsip

Mengamati terjadinya antibiosis pada *Fusarium* spp atau patogen lain oleh APH *Trichoderma* spp.

G.2 Bahan

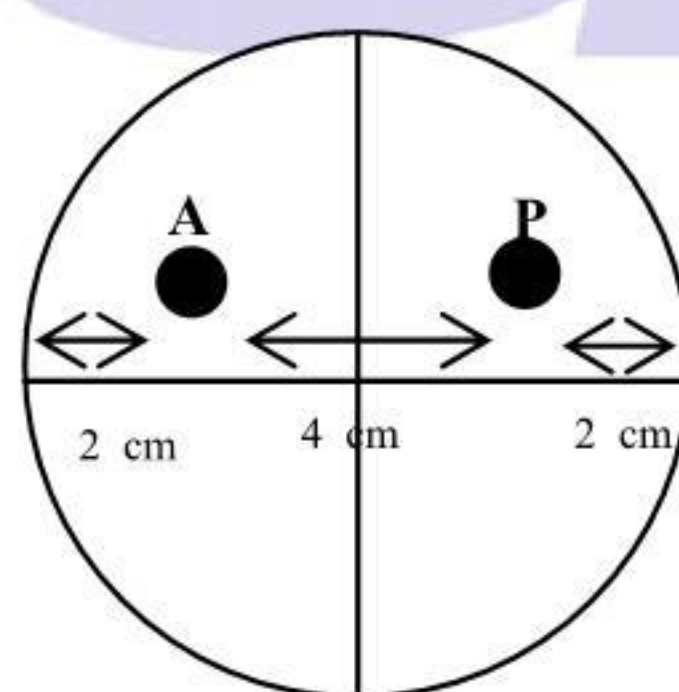
- a. Sampel APH *Trichoderma* spp.;
- b. Patogen *Fusarium* spp. atau patogen yang lain.

G.3 Peralatan

- a. Cawan petri diameter 9 cm;
- b. Erlenmeyer 100 ml;
- c. Bor gabus (*cork borer*) diameter 0,5 cm.

G.4 Prosedur pengujian antibiosis

- a) Siapkan medium PDA dalam cawan petri



Keterangan

A : *Trichoderma* spp.
B : Patogen

Gambar G.1 - Proses

- b) Ambil isolat *Trichoderma* spp. yang berumur 7 hari - 9 hari menggunakan bor gabus berdiameter 0,5 cm dari bagian tepi koloni.
- c) Letakkan potongan isolat *Trichoderma* spp. pada medium PDA dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri kemudian beri tanda T
- d) Ambil isolat *Fusarium* spp. (atau patogen lain) yang sudah disiapkan dengan bor gabus berdiameter 0,5 cm dari bagian tepi koloni.
- e) Letakkan potongan isolat *Fusarium* spp. pada medium PDA dalam cawan petri dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri pada sisi yang berseberangan dengan *Trichoderma* spp. kemudian beri tanda P.
- f) Ulangi langkah c dan d pada medium PDA yang berbeda sebagai kontrol.

- g) Amati adanya zona bening yang tidak ditumbuhi oleh koloni jamur pada area di antara koloni jamur *Trichoderma* spp. dengan *Fusarium* spp. sebagai salah satu indikator adanya aktifitas antibiosis.
- h) Ukur zona bening yang terbentuk antara koloni jamur *Trichoderma* spp. dengan patogen (*Fusarium* spp.) pada cawan petri.
- i) Pengujian dilakukan minimum sebanyak tiga ulangan.



Lampiran H (normatif) Uji mikoparasitisme

H.1 Prinsip

Peristiwa terjadinya penghambatan satu patogen oleh jasad antagonistik dengan terbentuknya zona bening.

H.2 Bahan

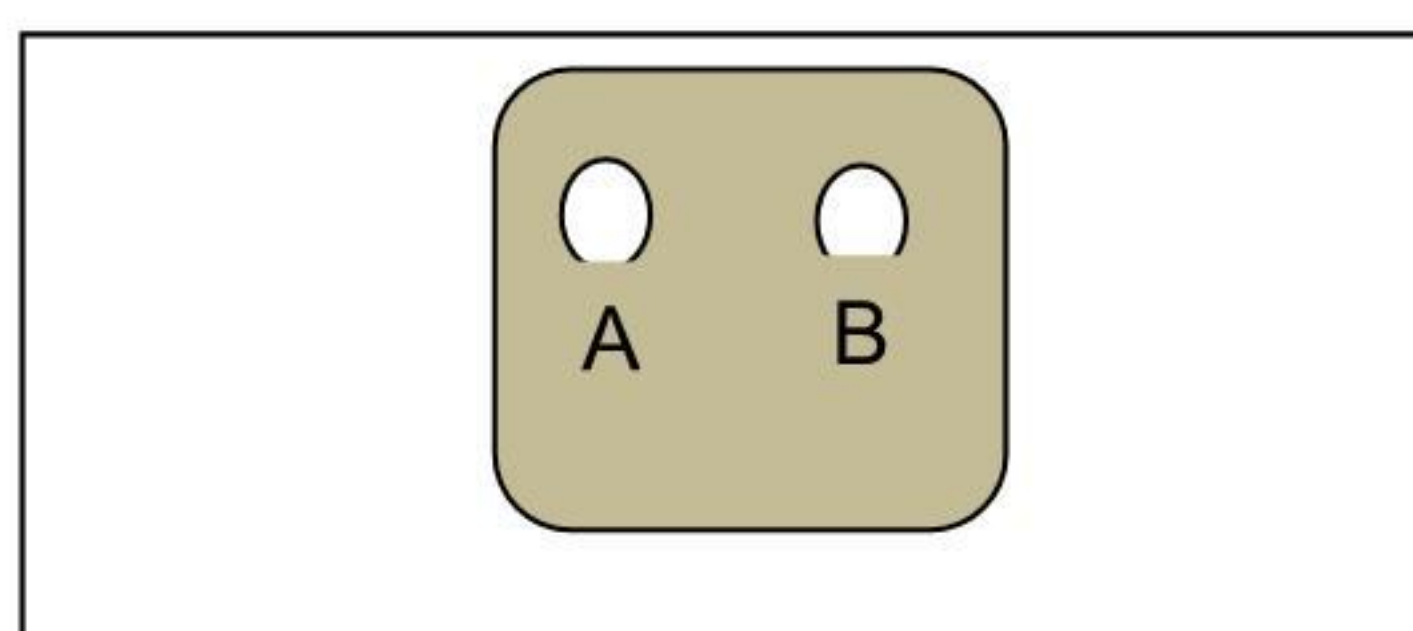
- a. Sampel APH *Trichoderma* spp.
- b. Patogen jamur *Fusarium* spp. atau patogen yang lain.

H.3 Peralatan

- a. Cawan petri diameter 9 cm;
- b. Erlenmeyer 100 ml;
- c. Bor gabus (*cork borer*) diameter 0,5 cm.

H.4 Prosedur pengujian mikoparasitisme

- a) Gelas benda dicelupkan dalam alkohol 70 % kemudian panaskan di atas api lampu spiritus.
- b) Cairkan medium PDA dalam tabung reaksi sampai medium cair.
- c) Teteskan sebanyak 1 tetes - 2 tetes medium PDA di atas gelas benda sambil diratakan.
- d) Inokulasi medium PDA dengan isolat jamur *Trichoderma* spp. dan jamur patogen uji pada dua sisi yang berbeda dengan jarak 1 cm - 2 cm.



Keterangan

A : *Trichoderma* spp.
B : jamur patogen

Gambar H.1 - Proses mikoparasitik

- e) Apabila kedua koloni sudah saling bertemu, dilakukan pengamatan di bawah mikroskop untuk melihat adanya aktifitas mikoparasitisme yang ditunjukkan dengan adanya hifa *Trichoderma* spp. yang melilit pada hifa jamur patogen dan kemudian akan diikuti dengan terjadinya lisis pada hifa jamur patogen.

**Lampiran I
(informatif)
Pembuatan media agar**

I.1 Prinsip

Membuat medium agar

I.2 Bahan

- a. Medium potato dextrose agar (PDA) instan
- b. Medium sauboraud dextrose agar (SDA) instan

I.3 Peralatan

- a. Cawan petri dengan diameter 15 cm;
- b. Erlenmeyer 250 ml;
- c. *Syringe*
- d. Otoklaf
- e. Timbangan

I.4 Prosedur pembuatan media agar

- a. Timbang medium PDA sebanyak 39 g atau 65 g untuk medium SDA.
- b. Masukkan medium tersebut ke dalam gelas piala 1000 ml.
- c. Tuang akuades ke dalam gelas piala tersebut sampai 1000 ml.
- d. Tuangkan air kedalam panci kecil dan letakkan diatas nyala api kompor.
- e. Letakkan gelas piala ke dalam panci tersebut, kemudian aduk terus sampai medium PDA atau SDA di dalamnya agak mengental (kurang lebih 1 jam - 2 jam)
- f. Siapkan tabung reaksi pada rak atau erlenmeyer yang telah disteril, serta *syringe* 5 ml.
- g. Setelah medium PDA atau SDA agak mengental kompor dimatikan.
- h. Ambil PDA atau SDA dengan menggunakan *syringe* sebanyak 5 ml dan tuangkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditutup kapas dan aluminium foil. Sebagai stok, tuangkan medium PDA atau SDA ke dalam erlenmeyer sesuai dengan yang kita inginkan, kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil.
- i. Tabung reaksi dan erlenmeyer yang telah terisi PDA atau SDA kemudian dibungkus plastik dan disteril dengan menggunakan autoklaf.
- j. Setelah proses sterilisasi menggunakan autoklaf selesai, medium yang menggunakan tabung reaksi kemudian dimiringkan.
- k. Inkubasikan media tersebut selama 1 hari - 2 hari, pisahkan media yang terkontaminasi.
- l. Medium dapat digunakan untuk perhitungan viabilitas konidium, maupun untuk perbanyakan jamur.
- m. Apabila medium tersebut belum digunakan sebaiknya disimpan dalam lemari es dengan suhu 5 °C.

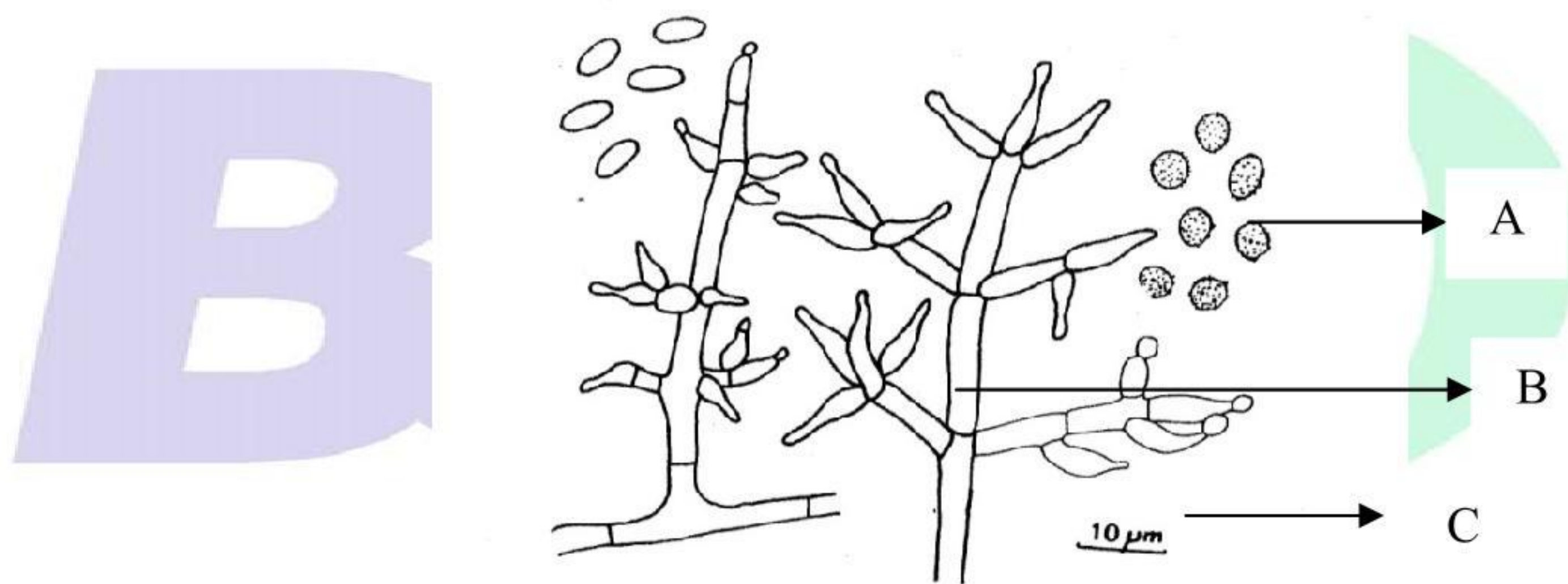
**Lampiran J
(informatif)
Morfologi *Trichoderma* spp.**

J.1 Morfologi makroskopis

Pada awal pertumbuhan, koloni mula-mula bening atau putih, kemudian berubah menjadi kehijauan. Seringkali koloni membentuk lingkaran konsentris.

J.2 Morfologi mikroskopis

Jamur *Trichoderma* spp. memiliki konidiofor tegak, hialin dan bercabang-cabang. Fialidnya tunggal atau lebih. Konidium berbentuk bulat telur, berukuran $(2,8 - 3,2) \times (2,5 \times 2,8) \mu\text{m}$. Konidium terbentuk secara kelompok di ujung fialid.



Keterangan:

A : Konidium

B : Konidiofor

C : Konidiospora

Gambar J.1 - Morfologi mikroskopis *Trichoderma* spp.

Bibliografi

- Anonim, 2009. *Instruksi Kerja Pengujian Mutu APH*, Laboratorium Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya.
- Anonim, <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/genre>. diakses tanggal 4 Februari 2013.
- Barnet, HL dan Hunter, 1972, *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, Third Edition, Burgess Publishing Company.
- Das, K., RKS Tiwari, & DK Shrivastava, 2010, *Techniques for Evaluation of Medicinal Plant Products as Antimicrobial Agent :Current Methods and Future Trends*, Journal of medicinal Plants Research Vol. 4(2) pp.104-111.
- Hadisutrisno B. & C. Boisson, 1987. Etude de la variabilite intraclonale de *Verticillium dahlia* Klebahn vis-à-vis de la tomate et du cotonnier. These du Docteur ingenieur Ensa de Montpellier(unpublished)
- Hadisutrisno, B. 2005. Pedoman inokulasi planlet vanili dengan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. secara *in vitro* Fakultas Pertanian UGM.
- Imtiaj, A. & Tae-Soo Lee, 2008, *Antagonistic Effect of Three Trichoderma Species on The Alternaria porri Pathogen of Onion Blotch*, World Journal of Agricultural Sciences 4(1):13-17.
- Inglis, GD., J. Enkerli dan M.S. Goettel, 2012, *Laboratory techniques Used for Entomopathogenic Fungi : Hypocreales* dalam Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, Second Edition, Academic Press, Wasington, USA, pp. 189-253.
- Lawrence, A.L. 1994. *Biological Techniques : Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press. New York, Sydney-Tokyo-Toronto.
- Semangun, H., 2008, *Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*, Gadjah Mada University Press.